Aus dem Cornell University Medical College,
Departement of Pathology,
New York Hospital

Das Schicksal von roten und weißen Blutkörperchen in der Milz

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der medizinischen Fakultät

der Universität Basel

Vorgelegt von

Hans Wehrle

aus Basel

BASEL 1937

Von der medizinischen Fakultät genehmigt
auf Antrag von Herrn Professor Dr A. Werthemann

Tag der Promotion: 27. November 1937

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Diese Veröffentlichung erscheint in englischer Sprache
in The Archives of Pathology April 1938,
Vol. 25, pp. 514—526

Artfremde, heterologe Erythrocyten, auf künstlichem Wege in die Blutzirkulation eingebracht, bedingen eine komplexe Reaktion des Organismus. Unter anderem werden die fremden Zellen in der Milz oder in der Leber oder in anderen Geweben innerhalb von Phagocyten gefunden. Es war der Zweck dieses Experimentes, das Schicksal von roten Blutkörperchen derselben Tierart zu beobachten, wenn solche in die Blutbahn eingespritzt wurden, und zugleich den Modus kennen zu lernen, nachdem der Tierkörper seine eigenen verbrauchten Blutzellen verarbeitet. Gewaschene homologe Erythrocyten wurden in ahnsehnlicher Menge intravenös eingespritzt und das reaktive Geschehen in der Milz wurde histologisch untersucht. Unsere Untersuchung umfaßte rote sowohl wie weiße Blutkörperchen und stellte eine ausgezeichnete Gelegenheit dar, die Phagocytose von Blutkörperchen in allen Einzelheiten zu studieren.

Gowan (1) injizierte gewaschene Hühnerblutkörperchen intravenös in Kaninchen. Kurz nach der Injektion traten Haemoglobinaemie und Haemoglobinurie auf als Zeichen, daß im Tierkörper eine Haemolyse stattgefunden hatte. Das Kaninchenserum war mehr oder weniger haemolytisch für Hühnerblut in vitro. Ueberall, wo eine starke Haemolyse in vitro beobachtet wurde, erlagen die Hühnererythrocyten auch in vivo rasch einer Haemolyse. Dieser Prozeß ging vonstatten, ohne daß eine Spur von Phagocytose der Vogelblutkörperchen etwa in den Kupfferzellen der Leber oder in der Milz gesehen werden konnte. Die Hühnerblutkörperchen waren binnen 30 Minuten aus dem strömenden Blut verschwunden. Sie häuften sich entweder in den Leberkapillaren an oder wurden rasch innerhalb der Blutbahn aufgelöst. Addison (2) injizierte Kaninchen intravenös mit gewaschenen Taubenblutkörperchen, perfundierte die Milzen mit physiologischer Kochsalzlösung in bestimmten Zeitintervallen nach der Einspritzung und untersuchte die Organe histologisch. Die Taubenblutkörperchen hatten sich in der Milz angehäuft und begannen hier tiefgreifende Veränderungen zu zeigen: Die Kerne verloren ihre Färbbarkeit und die Zellkörper zerfielen in gerundete und unregelmäßige Fragmente. Ganze Erythrocyten und Fragmente von solchen wurden verschluckt von großen freischwimmenden Zellen in den Sinus der Pulpa («Splenocyten»). In denselben Zellen fand sich gelbbraunes Pigment, das mikrochemisch sich als eisenhaltig erwies. Die Tiere waren haemoglobinurisch für 12 Stunden nach der Injektion. Die Phagocyten, ihren massigen Einschlüssen entsprechend, waren 16 Stunden nach der Bluteinspritzung am größten und wiesen nach 48 Stunden wieder ungefähr normale Ausmaße auf. Polymorphkernige Leucocyten und Myelocyten des Kaninchens wurden im Anschluß an die Einspritzung

vermehrt in der Milz angetroffen und eine Menge solcher wurden ebenfalls von Freßzellen aufgeräumt.

Serumfreie Rinderblutkörperchen wurden von Cary (3) Kaninchen intravenös einverleibt. Schon in normalen Tieren ließen sich durch die Preußischblau-Reaktion in der Milz viele Phagocyten darstellen auf Grund von freiem Eisen, das von verdauten Erythrocyten herzuleiten war. Cary bezeichnete diese Phagocyten, die rote Blutkörperchen und deren Abbauprodukte enthielten, als «Haemophagen». Mit heterologen Blutkörperchen behandelte Tiere wiesen schon nach einer einzigen Injektion eine deutliche Vermehrung der Haemophagen auf. Nach wiederholten Injektionen wurden solche auch in der Leber getroffen, während sie unter normalen Verhältnissen in der Leber niemals vorkommen sollen.

Durch Transfusion von Gesamtblut artgleicher Tiere wird ein künstlicher Blutabbau veranlaßt. Nach Hunter's Beobachtungen (4) wurde nach Bluttransfusionen in der Milzpulpa von Kaninchen viel Pigment gefunden als intrazelluläre Körner und Klumpen in großen Pulpazellen, während sich in normalen Kaninchen kaum eine Spur von Milzpigment finden soll. Quincke (5 und 6) transfundierte Hunde mit Quantitäten von Hundeblut, die 40 bis 60 Prozent des eigenen Blutvolumens entsprachen. Der Haemoglobingehalt des Blutes stieg an und zeigte ein Maximum am zweiten Tag nach der Transfusion. Es brauchte 2 bis 4 Wochen, bis das Haemoglobin wieder auf einen normalen Spiegel abgefallen war. 2 bis 3 Wochen nach der Transfusion trat ein Schub von intrazellulären eisenhaltigen Körnern in der roten Milzpulpa auf, der sich zu den normalerweise schon gefundenen Pigmentkörnchen addierte. Nach 4 Wochen konnte solches Pigment in den Parenchymzellen der Leber und in den Endothelzellen der Leber (Kupfferzellen) gefunden werden. Das orange-gelbe Pigment blieb in den Pulpazellen der Milz für mehrere Monate liegen. Boycott und Douglas (7) transfundierten 50 cc Citrat-Blut von einem Kaninchen in ein anderes. Die Autoren fanden die Sauerstoffkapazität im Blut des Recipienten erhöht, sahen sie aber innerhalb von 14 Tagen wieder zum normalen Wert zurückkehren. In einer zweiten Reihe von Experimenten (8) wurde nach Transfusionen Milzschwellung und Leucocytose festgestellt. Haemoglobinaemie und Haemoglobinurie wurden in den transfundierten Tieren nicht beobachtet.

Rous (9) machte Kaninchen plethorisch durch tägliche intravenöse Einspritzungen von 10 cc Kaninchengesamtblut, was an einzelnen Tieren mehrere Wochen lang durchgeführt wurde. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Milz war nur eine geringgradige Vermehrung der phagocytären Vorgänge ersichtlich, dafür hatten sich Fragmente von Erythrocyten («Schizocyten») in der Milz angehäuft. Diese Gebilde ließen sich nicht auswaschen, wenn das Organ mit Locke'scher Lösung durchspült wurde. Andererseits wurde in der Milz einzelner transfundierter Tiere extrazelluläres, massiges, braunes Pigment ge-

funden. In einem weiteren Versuch, den Rous und Oliver unternahmen (10), kriegten wiederum Kaninchen tägliche Transfusionen von 10 oder 15 cc citriertes Kaninchengesamtblut für die Dauer von mehreren Wochen und sogar mehreren Monaten. Die Kaninchen, die in den ersten paar Wochen ihrer Plethora getötet wurden, zeigten vergrößerte Milzen, voll von Zelltrümmern und Pigment und Phagocyten, welche rote Blutkörperchen in ihrem Zelleib enthielten. Knochenmark und abdominale Lymphknoten zeigten eine ausgesprochene Siderose. In den Tieren, in denen die Plethora für mehrere Monate aufrechterhalten worden war, enthielten neben den oben genannten Organen auch die Leber- und Nierenparenchymzellen gelbbraunes Pigment, das sich eisenhaltig erwies. Die Milz hingegen hatte wieder annähernd normale Maße.

Rous und Robertson (11) studierten das Verhalten der Milz gegenüber Erythrocyten in normalen Tieren. Die Milz und andere Organe wurden von der Hauptarterie aus ausgespült. Die Milz von Meerschweinchen erwies sich durchwegs als sehr reich an Phagocyten, und eine Menge Phagocyten wurden auch in der Perfusionsflüssigkeit gesehen. In der Milz von Kaninchen, Menschen und Affen wurden nur wenige Phagocyten angetroffen und nur selten wurden solche ausgewaschen. Die Hundemilz wies zahlreiche Phagocyten auf, aber niemals erschienen welche in der Perfusionsflüssigkeit. Die Milz der Katze zeichnete sich aus durch ein vollständiges Fehlen von Phagocyten. Aber in der Perfusionsflüssigkeit, die von der Milz gesammelt wurde, wie auch im Herzblut fanden sich Fragmentationsformen von Erythrocyten. Später ließen sich solche Fragmente im Blute aller untersuchten Tiere nachweisen, und es wurde gezeigt, daß diese Fragmente sich in der Milz ansammelten.

Paton und Goodall (12) konnten nach der Entfernung der Milz keinerlei Erhöhung der Erythrocyten- oder Leucocyten-Zahlen im strömenden Blut feststellen. Sie injizierten defibriniertes Blut in die Blutbahn derselben Tierart (Hunde und Kaninchen) und konnten durch fortgesetzte Blutkörperchenzählung und Haemoglobinbestimmung zeigen, daß der Erythrocytenüberschuß in Tieren, denen die Milz entfernt worden war, in demselben Tempo abgebaut wurde wie in normalen Tieren. Diese Beobachtungen legten den Gedanken nahe, daß die Milz mit aktiver Zerstörung von Blutkörperchen nichts zu tun habe. Die Autoren glaubten aber beweisen zu können, daß die Milz Eisen stapelt, das vom Haemoglobin abstammt und das dazu da ist, im Aufbau neuen Blutfarbstoffes wieder verwendet zu werden. Dieser Schluß wurde gezogen aus der Beobachtung, daß die Anaemie, welche sich durch Fütterung von eiweiß- und eisenarmer Nahrung (Reis) in Kaninchen erzeugen läßt, in splenektomierten Tieren viel ausgesprochener ist. Bain (13) pumpte mit Hilfe des Brodie'schen Durchblutungsapparates (Journal of Physiology, 1903, 29, 266) Hundeblut durch die überlebende Milz desselben Tieres für die Dauer von

zirka zwei Stunden. Das Blut wurde vor und nach dem Experiment untersucht, es wies nach den wiederholten Milzpassagen eine erniedrigte Erythrocytenzahl auf, vor allem aber war eine beträchtliche Verminderung der Leucocytenzahl augensichtlich. Die Lymphocyten waren in keiner Weise betroffen.

Steudemann (14) erzeugte eine gewaltige Stauung der Kaninchenmilz durch Unterbinden der Milzvene. Im Gefolge dieser Stauung traten in den Pulpasträngen massenhaft Phagocyten auf, welche rote und weiße Blutkörperchen enthielten. Daneben zeigten viele frei in der Pulpa liegende polymorphkernige Leucocyten Kernzerfall, und ihre Trümmer häuften sich in den Zellen und zwischen den Zellen der Pulpa an.

Naegeli (15) stellt fest, daß der Untergang der Leucocyten stattfindet in Lymphknoten, in der Milz, in der Leber und im Knochenmark. In diesen Organen werden Leucocyten und Überreste von Leucocyten innerhalb von Macrophagen angetroffen, oft zusammen mit Resten von roten Blutkörperchen. Nach Seyderhelm und Oestreich (16) ist der histologische Befund von Leucocytentrümmern in Phagocyten der Milz und des Knochenmarks und der Lymphdrüsen nur ein gelegentlicher und daher bedeutungslos. Von der Beobachtung ausgehend, daß absterbende Leucocyten sich mit Kongorot färben lassen, versetzten sie Empyemeiter mit Kongorot und injizierten so gewonnene gewaschene Leucocytensuspensionen in die Zirkulation von Hunden und Kaninchen. In Tieren, die unmittelbar nach der Injektion getötet wurden, waren die Lungenkapillaren vollgestopft mit gefärbten Leucocyten. Es fanden sich solche gruppenweise angeordnet in der Milzpulpa, und einzelne wurden in den Nierengefäßen und im Knochenmark, in der Leber und in der Muskulatur getroffen. Gefärbte Leucocyten wurden allein in der Leber wiedergefunden, wenn die Leucocytenemulsion direkt in der Portalvene eingespritzt wurde und ebenso, wenn die Tiere nach der Injektion in die Ohrvene für einige Stunden leben gelassen wurden. Ein paar Stunden später waren die gefärbten Leucocyten auch aus der Leber verschwunden. Die Autoren kamen zu dem Schluß, daß totes Zellmaterial hauptsächlich von der Leber aus dem Blute abgefangen wird.

Methode.

Das Spenderblut wurde gewonnen durch direkte Herzpunktion in Äthernarkose, unter sterilen Kautelen. Durch Heparin oder Citratlösung wurde der Gerinnung des Blutes vorgebeugt. Das Blut wurde durch die Zentrifuge geschickt und die Blutkörperchen auf diese Weise dreimal in Kochsalzlösung gewaschen. Die Blutsuspension wurde durch Zugabe von Kochsalzlösung zurück zur ursprünglichen Konzentration gebracht.

Die Suspension gewaschener Blutkörperchen (20 cc) wurde in die laterale Ohrvene von Kaninchen eingespritzt. Die Versuchstiere hatten

ein Gewicht zwischen 1500 und 1700 gr. Sie wurden mit Äther getötet, 30 Minuten, 2½ Stunden, 6, 8, 16, 18, 24, 29, 48 und 96 Stunden nach der Injektion. Vier nicht mit Blutkörperchen vorbehandelte Tiere wurden als Kontrollen verwendet. Die Milzen der Tiere wurden in situ mit physiologischer Kochsalzlösung durchgespült. Die Flüssigkeit passierte das Organ unter einem Druck von 100 bis 120 cm Wassersäule. Die Aorta wurde oberhalb der Nierengefäße abgebunden und ebenso die Verzweigungen der arteria coeliaca mit Ausnahme der Milzarterie. Die rami gastrici, die von der Milzarterie und Milzvene zum Magen hinüberlaufen, wurden doppelt unterbunden und durchtrennt. Eine Glaskanüle wurde in die Aorta unterhalb des Zwerchfelldurchtrittes eingebunden und Spülflüssigkeit in die Aorta einlaufen gelassen mit der Milzarterie als einzigem offenem Ausgang. Luftblasen im System mußten verhütet werden. Die Flüssigkeit wurde von der Milzvene ausfließen gelassen und zum Zwecke der Untersuchung gesammelt. Die Durchspülung wurde solange fortgesetzt, bis die Milz ihr charakteristisches bläulich-rotes Kolorit verlor und eine blasse, rosarote Farbe bekam. Die Perfusionsflüssigkeit kam gewöhnlich nach wenigen Minuten klar. Eine Fixierungsflüssigkeit, bestehend aus einem Gemisch von 40prozentigem Formalin und 3 Prozent Kalium bichromat wurde auf demselben Wege durchgeschickt, bis das Organ gehörig imprägniert erschien (fünf Minuten).

Die Perfusionsflüssigkeit wurde zentrifugiert und aus dem Sediment wurden Ausstrichpräparate angefertigt. Dann und wann wurden auch Abklatschpräparate hergestellt von Milzgewebe, bevor es mit Fixierungsflüssigkeit in Berührung gekommen war. Alle die Ausstrichpräparate wurden in Wright's Lösung gefärbt. Milzstücke wurden fixiert in 10 Prozent Formalin, in Zenker's Lösung und in dem Formalin-Bichromat-Gemisch. Darin wurden die Stücke für 24 Stunden liegen gelassen, bevor sie eingebettet und zum Schneiden vorbereitet wurden. Es zeigte sich, daß die Organe durch das Ausspülen ein gutes Stück ihrer Konsistenz verloren, weich und brüchig wurden. Ohne gründliche Fixierung zerfetzten sie im Mikrotom. Die Schnitte wurden gefärbt mit Haematoxylin-Eosin, mit Haematoxylin-Eosin-Azur und Eosin-Methylenbau. Dünne Schnitte erwiesen sich als vorteilhaft und wurden in 2—3 mikron Dicke angefertigt.

Milzperfusion wäscht rote Blutkörperchen nicht nur aus den Sinus, sondern ebensowohl aus den Pulpasträngen. Offensichtlich findet die Spülflüssigkeit einen so ungehinderten Zugang in das Pulpaparenchym, abgesehen von den Sinus, daß Erythrocyten ausgeschwemmt werden. Beobachtungen, welche später wiedergegeben werden sollen, zeigen, daß nur wenige Phagocyten aus den Sinus oder aus den Pulpasträngen ausgetrieben werden. Indem durch die Perfusion auf dem Gefäßwege die Überfülle von Blut aus dem Organ ausgeschwemmt und durch klare Flüssigkeit ersetzt wird, wird die histologische Feststellung von Phagocyten wesentlich erleichtert und zuverlässiger.

Phagocyten in der Milz.

Die Beziehungen der zellulären Elemente in der Milz untereinander und ihre funktionelle Bedeutung sind mit gegenwärtigem Wissen von der Sache noch nicht geklärt. Die Phagocyten in der gesunden Milz und in den Milzen von Tieren, die mit Blutkörperchen in der oben beschriebenen Weise behandelt wurden, sind derselben Art. Es mag daher gut sein, von diesen Zellen zum vorneherein eine Beschreibung zu geben.

Phagocyten in den Pulpasträngen. — Mononukleäre Zellen von relativ winzigen Ausmaßen liegen in den Maschensträngen der roten Pulpa, mit je einem einzelnen Erythrocyten als Einschluß. Dieser Zelltyp stellt eine ansehnliche Proportion aller Phagocyten in der normalen Milz dar, und ein Großteil von dem Untergang geweihten roten Blutkörperchen wird einzeln verschluckt und verdaut. Dieser Phagocyt mag so klein sein, daß sein Cytoplasma ein schmales und kaum sichtbares Band um Phagocytenkern und verschluckte Zelle herum bildet. Die Kerne dieser kleinen Mononukleären färben sich strukturlos homogen und bedeutend dünkler als Kerne von großen Phagocyten. Das einzelne eingeschlossene Körperchen liegt an den Kern gepreßt, oft so tief in einer Einbuchtung drin, daß es von dem halbmondförmigen Kern beinah vollständig umschlossen erscheint.

In der Milzpulpa sind andererseits auch Zellen von großem Format und allerlei Gestalt mit einer Vielheit von Blutzellen in ihrem Zelleib. Diese großen Phagocyten werden überall in der Pulpa gefunden und sogar in den Malphigi'schen Follikeln, doch bedeutend seltener in diesen. Ihre Gestalt variiert in weiten Grenzen und es werden ovale oder vieleckige oder enorm langgezogene Formen getroffen. Charakteristische Merkmale dieser Zellen sind protoplasmatische Fortsätze, die einzeln oder multipel sein mögen und oft der Zelle ein sternförmiges Aussehen verleihen. Die Fortsätze sind zum Teil lang ausgestreckt und zerteilen sich in feinere Äste. Es mag angenommen werden, daß die Zellen durch diese Fortsätze bis zu einem gewissen Grade verankert werden. Die freien wandernden Phagocyten mögen diejenigen sein mit den ganz kurzen, stumpfen Fortsätzen. Das Verhältnis dieser «Pulupazellen» zum retikulären Maschenwerk ist noch nicht zufriedenstellend klargestellt. Es ist aber augenscheinlich, daß Zelleib und Fortsätze in engem Kontakt mit den retikulären Fasern stehen.

Der große bläschenförmige Kern des großen Phagocyten unterscheidet sich auffallend von dem homogenen, dunkelschwarz gefärbten Kern der kleinen phagocytären Zellen, die nur einzelne Erythrocyten enthalten. Der Kern liegt hier gewöhnlich in der Zellmitte, inmitten der Einschlüsse. Er mag auch manchmal an die Peripherie verlagert sein, oft eingebuchtet und verformt, wie um den Einschlüssen Platz zu geben. Diese Phagocyten enthalten rote Blut-

körperchen, lichtes gelbes Pigment, Granulocyten und Zerfallsprodukte von solchen.

Phagocyten in den Sinus. — Die Zellen, die die endothelialen Auskleidungen der venösen Bluträume darstellen, enthalten Einschlüsse, die identisch sind mit denen innerhalb von Pulpazellen. Die Wandzellen der Sinus sind bekanntermaßen langgestreckt. Ihre Kerne, in derselben Richtung ausgezogen, sind meistens platt und springen in seltenen Fällen leicht gegen das Lumen vor. An der Sinuswand haftende Zellen, die Blutzellen oder von solchen stammende Überreste enthalten, springen auffallend ins Lumen vor. Die Gestalt dieser Phagocyten ist mannigfaltig, einige von ihnen sind noch mit breiter Basis auf der Unterlage festsitzend, während bei anderen der Zusammenhang mit der Sinusauskleidung nur aus einem schmalen cytoplasmatischen Fortsatz besteht. Es sind alle Übergänge vorhanden bis zu vollkommen freien Zellen, die im Lumen der Sinus schwimmen. Erythrocyten oder Granulocyten werden oft an der Oberfläche der Wandzellen kleben gesehen. In einzelnen Fällen ist es schwer zu entscheiden, ob sie sich noch außerhalb der Zelle befinden oder ob sie bereits ins Cytoplasma aufgenommen worden sind.

Im freien Lumen von Sinus finden sich große freie Phagocyten mit gerundeten oder leicht unregelmäßigen Umrissen. Einzelne unter diesen haben einen kurzen Zellfortsatz und andere haben mehrere solche Fortsätze, welche der Zelle in diesem Falle eine wellenförmige Kontur verleihen. Es wurden auch lang ausgezogene, fingerähnliche Fortsäze beobachtet. Der Kern färbt sich intensiv, er hat eine deutliche Membran und weist runde oder unregelmäßige, langgezogene und

Tafel I.

Phagocytenauszählung in den perfundierten Milzen von normalen Tieren und von injicierten Tieren.

	Phagocyten der Pulpabalken	Phagocyten der Sinuswände	Phagocyten frei im Sinus	Total Phagocyten
Kontrolltier	30	10	9	49
Kontrolltier	20	7	10	37
Kontrolltier	26	5	6	37
Kontrolltier	36	6	8	50
Durchschnittswert in Kontrolltieren	28,0	7,0	8,1	43,2
Nach 30 Minuten	42	6	19	67
Nach 2½ Stunden	57	4	7	68
Nach 6 Stunden	36	4	10	50
Nach 8 Stunden	40	4	6	50
Nach 10 Stunden	90	16	14	120
Nach 16 Stunden	119	17	26	162
Nach 18 Stunden	115	16	19	150
Nach 24 Stunden	38	9	5	52
Nach 29 Stunden	69	4	2	75
Nach 48 Stunden	37	9	10	56
Nach 96 Stunden	39	6	3	48

wurstförmige Formen auf. Er kann im Verhältnis zur ganzen Zelle ausnehmend groß oder verschwindend klein sein und liegt gewöhnlich zentral in der Zelle, mit den Einschlüssen rund herum angeordnet. Diese Zellen nehmen rote Blutkörperchen und Granulocyten auf und enthalten ein Allerlei von Einschlüssen, die von dem einen oder dem anderen herzuleiten sind.

Die Zellen mit phagocytären Eigenschaften, die der Sinusauskleidung angehören oder frei schwimmen, sind nicht so zahlreich wie die Phagocyten der Pulpastränge. Ein paarmal wurden solche mit Zelleinschlüssen beladene Exemplare gefunden, wie sie daran waren, durch die Sinuswand durchzuwandern. Eine Zellhälfte war bereits im Sinus und war durch eine sanfte Einschnürung von der anderen Hälfte abgesetzt, die noch außerhalb des Sinus lag.

Phagocytose in der normalen Milz.

In Milzschnitten der normalen Kontrolltiere wurden bereits Phagocyten gefunden. Am häufigsten lagen sie in den Pulpabalken, sie enthielten rote Blutkörperchen, Pigment oder polymorphkernige Leucocyten. Ein einzelner Erythrocyt wird häufig als singulärer Einschluß in einem winzigen Monocyten getroffen. Größere, protoplasmareiche Phagocyten mit mehreren (3 oder 4) eingeschlossenen roten Blutkörperchen liegen in der Pulpa der normalen Milz. Hellgelbes Pigment in Form grober Klumpen oder feiner Körnchen, welche in den Eisenfärbungen von Perl und von Turnbull ungefärbt bleiben, ist zweifellos von untergegangenen roten Blutkörperchen herzuleiten. Extrazelluläre Massen von solchem und ähnlichem Pigment werden nicht selten in der Pulpa gefunden.

Eisenhaltiges Pigment wurde in der Milz eines einzigen Kontrolltieres gefunden. Es ist erwähnenswert, daß Hunter (4) verschwindend wenig eisenhaltiges Pigment fand in den Milzen der jungen Säugetiere (besonders Kaninchen), die er untersuchte. Er konnte Pigment künstlich hervorrufen durch Einverleibung von Blutgiften wie Toluylendiamin und Pyrrogallussäure und ebenso durch Transfusionen. Quincke (6) fand eisenhaltiges Pigment in Form winziger Körnchen in der Milz gesunder Hunde. Addison (2) beschreibt in den Milzen von normalen Kaninchen phagocytäre Zellen mit Einschlüssen vom Charakter des Haemosiderins. Die Milz eines ausgewachsenen Kaninchens soll nach Boycott und Douglas (8) immer Reaktion für freies Eisen geben. Diese Regel gilt für 3000 gr schwere Tiere, nicht aber für kleinere.

Mehr oder weniger intakte Granulocyten (polymorphkernige Leucocyten) sind häufig innerhalb von großen Pulpazellen erkennbar. Diese Zellen besitzen zum Teil so abundantes Cytoplasma, daß es lange nicht ausgefüllt wird, sogar wenn recht viele Leucocyten in die Zelle hinein aufgenommen wurden. Phagocyten, die Leucocyten enthalten, sind auffallenderweise größer dimensioniert als solche, die

rote Blutkörperchen enthalten. Alle die verschiedenen Phasen der intrazellulären Verdauung von Leucocyten können in der normalen Milz gefunden werden, aber sie lassen sich viel leichter studieren in den Milzen der Tiere, denen rote Blutkörperchen einverleibt wurden. In einem bestimmten Stadium des Prozesses befinden sich Scheiben von basophilem Material, offensichtlich Kernbruchstücke, innerhalb der Macrophagen. Von der gruppenmäßigen Anhäufung der Granulocyten in den Pulpabalken wird später die Rede sein. Myelocyten werden in den Milzen normaler Tiere leicht gefunden.

Phagocytose nach der Einspritzung von Blutkörperchen in die Zirkulation.

Die injizierten Tiere zeigten einigermaßen deutlich vergrößerte Milzen. Die Organe wurden bei der Sektion gemessen, leider war es unmöglich, ihr Gewicht festzustellen, weil die Perfusion der Milzen in situ stattfand. Die Durchschnittsmaße von drei normalen Kontrollmilzen betrugen $4{,}5 \times 0{,}7 \times 0{,}2$ cm, während acht Milzen nach der Injektion von Blutkörperchen einen Durchschnitt von $5{,}3 \times 0{,}94 \times 0{,}3$ cm aufwiesen. Die Milz der injizierten Tiere zeigte ein dunkleres Rot als normal und war sichtlich gestaut. Unter dem Mikroskop war vermehrtes Vorhandensein von Blut in der Pulpa und Erweiterung der Sinus erkennbar. In den perfundierten Milzen blieben zahlreiche Blutkörperchen in den Follikelaußenzonen liegen, während sie von den Sinus sozusagen vollständig und ein Großteil von ihnen ebenfalls aus den Pulpabalken entfernt wurden.

Auszählungen wurden vorgenommen, um die gegenseitigen Verhältniszahlen von Phagocyten verschiedener Variationen und mit verschiedenartigen Einschlüssen festzustellen. Die Auszählungen wurden in gleich großen Arealen in Milzschnitten von annähernd derselben Dicke durchgeführt. Die ausgezählten Bezirke entsprechen einer Fläche, die beschrieben wird, wenn ein Gesichtsfeld bei Ölimmersion (homogen. Immers. 1,8 mm, Apertur 1,30, Okular 2) durch eine Strecke von 1 cm durchbewegt wird. Tafel I enthält die Zahlen, wie Phagocyten in der Milz normaler Tiere und zu gegebenen Zeitintervallen nach der Injektion vorkommen. Die Phagocyten der Pulpa und die Phagocyten der Sinuswand und die freien Phagocyten im Lumen der Sinus werden getrennt angeführt. Tafel II gibt die Anzahl der einzelnen Phagocyten an, welche rote Blutkörperchen, Pigment, Granulocyten und Kernfragmente enthalten, in normalen Milzen und in Milzen von injizierten Tieren.

Im Anschluß an die Injektion von Blutkörperchen wird eine gesteigerte phagocytäre Tätigkeit in der Milz beobachtet. Diese kommt zum Ausdruck in der vermehrten Anzahl von Zellen, welche tatsächlich Einschlüsse enthalten, und kann bereits in dem Tier fetsgestellt wer-

Tafel II.

Auszählung von Phagocyten, die Erythrocyten, Granulocyten und Zelltrümmer enthalten in der Milz von normalen Tieren und von injicierten Tieren.

	Phagocyten enthalten Erythrocyten	Phagocyten enthalten Blutpigment	Phagocyten enthalten Granulocyten	Phagocyten enthalten Kern-fragmente
Kontrolltier	14	4	15	16
Kontrolltier	7	23	7	4
Kontrolltier	12	23	8	8
Kontrolltier	10	11	7	8
Durchschnittswert in Kontrolltieren	10,75	15,2	9,5	9,0
Nach 30 Minuten	5	9	25	30
Nach 2½ Stunden	16	31	9	16
Nach 6 Stunden	13	10	13	16
Nach 8 Stunden	12	6	18	16
Nach 10 Stunden	35	33	44	45
Nach 16 Stunden	89	34	28	6
Nach 18 Stunden	32	54	32	30
Nach 24 Stunden	11	22	11	10
Nach 29 Stunden	7	20	18	27
Nach 48 Stunden	16	6	19	17
Nach 96 Stunden	10	12	17	11

den, das 30 Minuten nach der Injektion untersucht wurde. In diesem Stadium ist die Phagocytose von Granulocyten vermehrt, und nach 2½ Stunden tritt in den Schnitten vermehrte Phagocytose von Erythrocyten zutage. Die Phagocytose von roten und weißen Zellen hält dann für 8 Stunden einen im Vergleich zu Kontrollen leicht erhöhten Index ein. Der Prozeß zeigt eine wesentliche Steigerung zwischen 16 und 18 Stunden nach der Injektion und fällt nach 24 Stunden wieder dermaßen ab, daß ein sozusagen normaler oder nur kaum erhöhter Grad erreicht ist.

Die Zahl der phagocytären Zellen, die Überreste von roten Blutkörperchen — gelbes Pigment — enthalten, zeigt uncharakterstische Schwankungen in den gegebenen Zeitintervallen nach der Injektion. Der Spitzenbestand der pigmenthaltigen Phagocyten liegt wiederum in der Nähe von 18 Stunden nach der Injektion.

Zerfallsprodukte von Granulocyten, die sich als intrazelluläre Kernfragmente darbieten, sind bereits vermehrt im 30-Minuten-Experiment. Ihre Hauptmasse findet sich nach 16 Stunden vor, aber noch nach 48 Stunden ist ihre Zahl gegenüber dem Normalen deutlich erhöht.

Es kann gesagt werden, daß Phagocytose von roten und weißen Blutkörperchen und alle Zeichen intrazellulärer Verdauung zwischen 16 und 18 Stunden nach dem Einbringen von Blutkörperchen in die Zirkulation ihren Höhepunkt erreicht haben. Diese vermehrte phagocytäre Tätigkeit fällt hauptsächlich auf Rechnung der Pulpaphagocyten. Die Sinusphagocyten erreichen ebenso ein Maximum nach 16 Stunden, wenn auch auf einer zahlenmäßig niedrigeren Stufe.

Um über den Zyklus der phagozytären Tätigkeit der Milz, die sich durch intravenöse Einspritzung von Blutkörperchen auslösen läßt, eine andere entsprechende Aussage zu bekommen, wurden die Phagocyten gemessen. In jedem Präparat der Milz von normalen Tieren und von injizierten Tieren wurden 20 Phagocyten mit Zelleinschlüssen mit Hilfe des Okularmikrometers ausgemessen. In Tafel III sind die Größenskalen und die durchschnittlichen Dimensionen von Phagocyten zu einem gegebenen Intervall nach der Injektion wiedergegeben. Die größten Durchschnitte wurden im 16-Stundenexperiment erreicht. Die Größe der anfangs beschriebenen kleinen mononukleären Phagocyten bewegt sich um 8×6 mikron im Vergleich mit durchschnittlichen großen Phagocyten von 15×10 mikron.

Tafel III.

Größenskala und durchschnittliche Größe der Phagocyten in der Milz von normalen Tieren und von injicierten Tieren.

	Minimum Mikron	Maximum Mikron	Durchschnittliche Größe Mikron
Kontrolltier	9×6	14×14	13×9
Kontrolltier	10×8	24×11	14×10
Kontrolltier	10×8	22×14	14×10
Kontrolltier	10×8	19×11	12×9
Durchschnittswert in Kontrolltieren	$9{,}3 \times 7{,}5$	$20{,}0 \times 12{,}8$	$13{,}6 \times 9{,}3$
Nach 30 Minuten	10×6	26×11	15×10
Nach $2^1/_2$ Stunden	10×10	22×16	15×10
Nach 6 Stunden	8×7	22×18	13×10
Nach 8 Stunden	13×10	52×11	17×11
Nach 10 Stunden	10×8	23×14	18×11
Nach 16 Stunden	13×10	27×16	18×12
Nach 18 Stunden	11×10	29×14	16×12
Nach 24 Stunden	11×6	22×19	15×9
Nach 29 Stunden	10×10	19×16	14×9
Nach 48 Stunden	8×5	18×14	13×10
Nach 96 Stunden	10×10	16×11	14×9

Der Urin von sämtlichen in den Experimenten verwendeten Tieren wurde auf Blutfarbstoff untersucht. In keinem Falle konnte Haemoglobinurie festgestellt werden.

Phagocyten in der Perfusionsflüssigkeit.

Die Untersuchung der Perfusionsflüssigkeit, die von der Milzvene gesammelt worden war, enthüllte die Tatsache, daß nur wenige Phagocyten sich mit der Kochsalzlösung aus dem Organ auswaschen ließen. Die wenigen Phagocyten, die gefunden werden, sind in beinah jedem Falle gerundete, große Zellen, den Exemplaren entsprechend, die in den Sinus frei getroffen werden. In dem Cytoplasma dieser Zellen fanden sich Erythrocyten und Granulocyten und große leere Vacuolen. In den meisten Präparaten ließen sich Phagocyten nur nach

langem Suchen auffinden, und in vielen war auch sorgfältiges Durchmustern erfolglos. Viele Lymphocyten, kleine und mittlere und große, und einzelne Lymphoblasten erschienen neben vielen Erythrocyten in der Perfusion.

Es war zu untersuchen, ob durch das Auswaschen die Zahl der Phagocyten in der Milz beeinflußt wurde oder nicht. Zu diesem Zwecke wurden in einem Teil der Experimente die Abzweigungen der arteria lienalis zur kaudalen Hälfte der Milz der Perfusion vorangehend unterbunden, sodaß allein die andere Hälfte des Organes durchspült wurde. Die mikroskopischen Schnitte der beiden Hälften wurden miteinander verglichen. Tafel IV gibt das Ergebnis der Phagocytenauszählung im ungespülten Milzgewebe wieder. Es ist in dem ursprünglichen Zustand schwerer, Phagocyten zu identifizieren und die Zahlen sind weniger genau als von gespühlten Partien. Im ganzen wurde keine wesentliche Differenz in der Anzahl der Phagocyzten in gewaschenem und ungewaschenem Gewebe festgestellt.

Tafel IV.

Phagocytenauszählung in nicht perfundiertem Milzgewebe in normalen Tieren und in injicierten Tieren.

	Phagocyten der Pulpabalken	Phagocyten der Sinuswände	Phagocyten frei im Sinus	Total Phagocyten
Kontrolltier	24	3	10	37
Kontrolltier	40	7	5	52
Durchschnittswert in Kontrolltieren	32,0	5	7,5	44,5
Nach 30 Minuten	33	5	24	62
Nach 2½ Stunden	59	6	9	74
Nach 6 Stunden	40	6	14	60
Nach 10 Stunden	94	8	12	114
Nach 16 Stunden	81	12	25	120
Nach 24 Stunden	35	5	5	45
Nach 48 Stunden	37	5	7	49
Nach 96 Stunden	39	6	3	48

Intrazellulärer Abbau von roten Blutkörperchen.

Rote Blutkörperchen enthaltende Phagocyten sind weitaus am häufigsten in den Pulpasträngen. Viele von ihnen haben protoplasmatische Fortsätze. Andere, von ebenfalls ansehnlicher Größe, sind abgerundet und liegen augensichtlich frei in der Pulpa. Einzelne Phagocyten, die ganze rote Blutkörperchen verschluckt haben, enthalten dazu noch große Mengen von gelbem, körnigem Pigment. Die Phagocyten in den Sinus können ebensowohl rote und weiße Blutkörperchen enthalten, aber sie stehen den Pulpazellen an Zahl bei weitem nach. An der Sinuswand haftende, blutzellenhaltige Phagocyten sind eben noch weniger zahlreich als freischwimmende. Erythrocyten kleben an der Zelloberfläche der Phagocyten, bevor sie tatsächlich in sie hinein aufgenommen werden. Ein oder zwei oder mehrere

Erythrocyten um eine große freie Zelle herum werden manchmal in den Sinus beobachtet. Rote Blutkörperchen und Pigment, Granulocyten und deren Trümmer werden oft alle zusammen in einer und derselben Zelle angetroffen. Die verschlungenen Erythrocyten sind eine lange Zeit als normal anzusprechen, mit morphologischen Kriterien betrachtet. Sie unterscheiden sich nicht in Größe, Gestalt, Färbbarkeit von umliegenden freien Blutkörperchen. Innerhalb des Phagocyten treten an ihnen Veränderungen auf, sie werden kleiner, kreisrund und bisweilen farblos. In andern Fällen nehmen verschluckte Erythrocyten mit Eosin eine tiefrote Farbe an und die Konturen der einzelnen Körperchen verschwinden, als ob sie miteinander verschmelzten. Der Umbau der Blutscheiben in amorphes oder grobkörniges Pigment vollzieht sich zusehends rasch, denn es werden keine Übergänge zwischen den beiden Zuständen gesehen. Das Blutpigment erscheint in zwei Formen: als scharf abgesetzte, runde oder unregelmäßige hellgelbe Scheiben, die leicht zu erkennen sind an ihrer helleuchtenden Erscheinung, oder aber als feine staubförmige Körnchen derselben Farbe, die durch das ganze Cytoplasma zerstreut liegen. Beide Pigmentvariationen können miteinander in derselben Zelle vorkommen.

Dieses Pigment, das im Gefolge der intravenösen Applikation von Blutkörperchen in der Milz der Kaninchen in vermehrtem Maße auftrat, hat auf die Eisenreaktionen nach den Methoden von Perl und Turnbull nicht angesprochen. Es konnte also innerhalb von 96 auffolgenden Stunden nach der Injektion Haemosiderin nicht nachgewiesen werden. Quincke (6) untersuchte Hundemilzen 5—200 Tage nach der Transfusion von großen Quantitäten von Hundeblut. Vermehrtes Auftreten von Haemosiderin-Pigment in der Milz wird erst nach Ablauf von zwei oder drei Wochen beschrieben.

Die Experimente lassen keine Entscheidung zu in der Frage, ob die Erythrocyten, die der Phagocytose anheimfallen, bereits geschädigt und lebensunfähig seien. Es kann auch nicht einmal gesagt werden, ob es sich bei den phagocytierten Blutkörperchen um die körpereigenen oder um die eingespritzten handle. Unbrauchbare korpuskuläre Elemente liefert auch der Organismus ohne Unterbruch. Im Hinblick auf die rasche Zunahme der intrazellulären Körperchen sofort nach der Injektion darf aber angenommen werden, daß es sich großenteils um injizierte Zellen handelt. Wir wissen auch nicht, ob die von Phagocyten aufgeräumten Blutkörperchen junge oder alte Exemplare sind, da wir die Alterserscheinungen der Erythrocyten nicht kennen (Rous, Physiological Reviews, 1923 3, 75).

Granulocytengruppen in der Pulpa.

Bei der Untersuchung der Milzschnitte bei schwacher Vergrößerung fallen gewisse Areale auf durch ihre lebhaft leuchtende Färbung mit

Eosin. Diese Gebilde sind zerstreut durch den ganzen Schnitt, in normalen Milzen als auch in Milzen nach der Injektion, und zwar sind sie in diesen letzteren weit auffallender durch ihre Häufigkeit und Größe. Bei starker Vergrößerung stellen sie sich heraus als Gruppen von Granulocyten in den Strängen der roten Pulpa: Die Gruppen bestehen in Kontrolltieren aus etwa 3 bis 7 Zellen und in behandelten Tieren aus 10 bis 20 Zellen oder mehr. Viele Leucocyten aus diesen Gruppen befinden sich offensichtlich mitten in einem Zerfallsprozesse. Die einzelnen Lappen des segmentierten Kernes trennen sich vollständig voneinander los und die plumpen kugeligen Überbleibsel nehmen gierig basischen Farbstoff auf. Die Verteilung der spezifischen Zellgranula wird eine ungeordnete und gleichzeitig entstehen einzelne unförmliche Granulakörner mit starker Eosinfärbung. Die Zellgranula liegt schließlich rund herum zerstreut und die Zellbegrenzung ist nun vollständig verschwunden. Das Abbaumaterial der Leucocyten, handle es sich nun um zerstreute Zellgranula oder um Kerntrümmer, kann in großer Menge zwischen den Zellen und um die Gruppe herum zerstreut gefunden werden. Phagocyten der Pulpa mit großen bläschenförmigen Kernen werden gewöhnlich in der Nähe der Gruppen getroffen. Sie enthalten gefressene Überreste oder aber auch ganze Granulocyten in ihrem Zelleib. Es fällt schwer, über das gegenseitige Verhältnis von Granulocytengruppen und Phagocyten etwas auszusagen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die Granulocyten an der Zelloberfläche von Phagocyten haften und in andern Fällen ist es wahrscheinlich, daß sich einige von den Granulocyten der Gruppe tatsächlich innerhalb von Phagocyten befinden, deren mit Vakuolen durchsetzter Zelleib nur mehr unscharf umgrenzt ist.

Intrazellulärer Abbau von Granulocyten.

Leucocyten, ebenso wie rote Blutkörperchen, werden in enger Berührung mit großen Zellen gesehen und es ist anzunehmen, daß sie erst an der Zelle adhaerent sind, bevor sie verschluckt werden. Wenn einmal innerhalb des Phagocyten, so schwillt der Kern des Granulocyten an zu plumpen Formen mit intensiver und ebenmäßiger Haematoxylinfärbung. Indem die Kernbrücken zerreißen, werden die einzelnen Kernsegmente zu getrennten Gebilden. Der Kern fällt so in zahlreiche Fragmente verschiedener Größe auseinander. Diese liegen als pyknotische Kugeln entweder im noch intakten weißen Blutkörperchen drin oder späterhin ausgesät durch das gesamte Cytoplasma des Phagocyten. Die Zellgrenze des verschluckten Granulocyten kann in einer frühen Phase des Abbaues schon verschwinden oder aber mag sie noch immer bestehen, wenn Kern und neutrophile Granulation schon längst nicht mehr zu erkennen sind. Die Granulocyten können durch alle Stadien ihres Zerfalles in deutlichen Vakuolen getroffen werden.

Die spezifische Granula von intrazellulären Leucocyten behält ihre regelmäßige Anordnung nicht länger, zugleich wird ihre Anzahl kleiner. Die einzelnen Körnchen weisen verschiedene Dimensionen auf und ein paar aufgeblasene große Kugeln werden beobachtet. Sie klumpen endlich an einer zirkumskripten Stelle zusammen. Meistens bleibt die azidophile Granula länger erhalten als der Kern, oft findet sie sich frei im Zellplasma des Phagocyten. In den letzten Stadien der intrazellulären Verdauung sind ein paar wenige mit Eosin hell gefärbte Kügelchen und einzelne zerstreute Kernfragmente im Phagocyten enthalten.

Ein auffallender Zug an der intrazellulären Verdauung von Granulocyten ist die Bildung von scharfumschriebenen kugeligen Teilen von basophilem Material. An einzelnen Kugeln mag ein helleres Zentrum gegenüber der dunklen Peripherie zu erkennen sein. Dieses Material ist zweifellos von Leucocytenkernen herzuleiten, aber wie das vor sich geht bleibt unklar. Die Kernkugeln können ihre basophile Färbung verlieren und roten Farbstoff aufnehmen. Alle Übergänge vom einen zum andern werden manchmal im selben Gesichtsfeld gefunden. Die homogenen globulären Kernteilchen liegen an der Peripherie oder ganz außerhalb des weißen Blutkörperchens.

Zusammenfassung.

1. Perfusion der Milz mit physiologischer Kochsalzlösung wäscht rote Blutkörperchen und Lymphocyten aus den Sinus und aus den Pulpasträngen. Mononukleäre Phagocyten und Granulocyten werden dadurch wenig betroffen. Die Beobachtung von Phagocyten in der Milz wird durch das Verfahren der Perfusion wesentlich leichter gemacht.

2. In der Milz von normalen Kaninchen findet aktive Phagocytose statt. Intrazelluläre Verdauung von Erythrocyten und Granulocyten spielt sich hauptsächlich in Phagocyten der Pulpastränge ab. In kleinerer Anzahl werden tätige Phagocyten in der Wandauskleidung der Sinus und frei im Lumen der Sinus gefunden.

3. Wenn gewaschene Kaninchenblutkörperchen in die Zirkulation von Kaninchen eingebracht werden, so wird dadurch eine Steigerung der phagocytären Tätigkeit der Milz ausgelöst. Die größte Leistungssteigerung wird zwischen 16 und 18 Stunden nach der Injektion erreicht, nach 48 Stunden sind wieder normale Zustände eingekehrt.

4. In der Milz von normalen Kaninchen und in der Milz von Tieren, die unmittelbar nach der Applikation von Blutkörperchen untersucht werden, werden viele kleine mononukleäre Zellen gefunden, die bloß

einen einzigen Erythrocyten enthalten. Das Cytoplasma liegt als schmales Band um Kern und verschluckte Zelle herum und ist oft kaum breit genug um sichtbar zu sein. Eine kleine Zahl von größeren Phagocyten in der Milz von normalen Kaninchen enthält eine Vielzahl von Blutzellen. Nach der intravenösen Applikation von gewaschenen homologen Blutkörperchen sind es diese großen Phagocyten, die in vermehrter Menge in den Pulpabalken und etwas weniger zahlreich in den Sinus auftreten.

5. Von Phagocyten aufgenommene Erythrocyten färben sich stark mit Eosin und klumpen zu einer kugeligen Masse zusammen. Diese Vorgänge sind sofort gefolgt von der Bildung von hellem gelben Pigment, das sich als nichteisenhaltig erwies. Dieses Pigment ist verschieden von dem orangegelben oder braunen Blutpigment, das als Haemosiderin bezeichnet wird.

6. Kleine Gruppenformationen von Granulocyten kommen vor in Pulpabalken normaler Milzen. Die weißen Blutzellen in diesen Gruppen zeigen degenerative Veränderungen wie Fragmentation des Kerns und Zusammensintern und Verschwinden der spezifischen Zellgranula. Solche Granulocyten befinden sich oft in engem Kontakt mit mononukleären Phagocyten und ein Teil ihrer Auflösung findet als intrazellulärer Abbau statt.

7. Nach der Injektion von homologen Blutkörperchen nehmen solche Granulocytengruppen, innerhalb deren die Zellen zerfallen, an Zahl und Ausdehnung beträchtlich zu; nach 48 Stunden sind wieder normale Zustände erreicht.

8. Phagocytose von Granulocyten ist bereits ausgesprochen in der Milz normaler Tiere, wird aber gesteigert durch Injektion von homologen Blutkörperchen. Der intrazelluläre Abbau der Granulocyten ist charakterisiert durch Fragmentation, Pyknose und Auflösung der Kernsubstanz und durch Zusammenklumpen und Auflösung der spezifischen Zellgranula.

An dieser Stelle wünsche ich Prof. Dr. Eugene L. Opie, Vorsteher der pathologischen Abteilung der Cornell Universität in New York, meinen besten Dank auszusprechen für viele wertvolle Ratschläge und fördernde Kritik bei der Ausführung der Arbeit.

Literatur.

1. Gowan J. P., Journ. Path. Bacter., 1910, 14, 379.
2. Addison W. H. F., Amer. Journ. Anat., 1920, 26, 437.
3. Cary W. E., Journ. infect. diseases, 1915, 17, 432.
4. Hunter W., Lancet, 1892, 2, 1209.
5. Quincke H., Deut. Archiv. klin. Med., 1880, 25, 567.
6. Quincke H., Deut. Archiv. klin. Med., 1880, 27, 193.
7. Boycott A. E. und
   Douglas C. G., Journ. Path. Bacter., 1909, 13, 414.
8. Boycott A. E. und
   Douglas C. G., Journ. Path. Bacter., 1910, 14, 294.
9. Rous P., Journ. exp. Med., 1917, 25, 665.
10. Rous P. und
    Oliver J., Journ. exp. Med., 1918, 28, 629.
11. Rous P. und
    Robertson O., Journ. exp. Med., 1917, 25, 651.
12. Paton D. und
    Goodall A., Journ. of Physiol., 1903, 29, 411.
13. Bain W., Journ. of Physiol., 1903, 29, 352.
14. Steudemann K., Folia haematol., 1914, 18, 140.
15. Naegeli O., Blutkrankheiten und Blutdiagnostik, 1931, 214.
    5. Auflage, Berlin.
16. Seyderhelm R. und
    Oestreich C., Zeits. ges. exp. Med., 1927, 56, 503.

Druckerei Cratander A.G. Basel